

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**Utjecaj biljke konoplje (*Cannabis sativa*) na reproduktivni sustav
kod sisavaca**

**The influence of cannabis plant (*Cannabis sativa*) on reproductive
system in mammals**

SEMINARSKI RAD

Tanita Demir

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate study of Molecular biology)

Mentor: doc. dr. sc. Duje Lisičić

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Biljka konoplja – od prošlosti do danas	1
1.2. Mehanizam djelovanja konoplje na reproduktivni sustav	1
1.3. Sisavci kao modelni organizmi za proučavanje konoplje	2
2. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA HORMONE REPRODUKTIVNOG SUSTAVA	3
2.1. Hipotalamus – hipofiza – gonadalni put	3
2.2. Utjecaj na izlučivanje muških spolnih hormona	3
2.3. Utjecaj na izlučivanje ženskih spolnih hormona	5
3. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA MUŠKI REPRODUKTIVNI SUSTAV	8
3.1. Utjecaj na morfologiju, brojnost i pokretljivost spermija	8
3.2. Utjecaj na veličinu, građu i enzime testisa	9
4. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA ŽENSKI REPRODUKTIVNI SUSTAV	12
4.1. Utjecaj na građu i funkciju maternice	12
4.2. Utjecaj na funkcije jajovoda	13
5. ZAKLJUČAK	14
6. LITERATURA	15
7. SAŽETAK	21
8. SUMMARY	22

1.UVOD

1.1. Biljka konoplja – od prošlosti do danas

Biljka konoplja, latinskog naziva *Cannabis sativa*, jednogodišnja je dvodomna kritosjemenjača koja se smatra jednom od najstarijih kultiviranih biljaka. Pretpostavlja se da potječe iz Središnje Azije, odakle se, pod čovjekovim utjecajem, vrlo brzo proširila na područje cijele Euroazije i ostatka svijeta. Konoplji je za rast potrebno mnogo svjetlosti te vlažno i nutrijentima bogato tlo, što omogućava njezin uzgoj već više od 12.000 godina. Tijekom povijesti koristila se za izradu tkanine i užadi, proizvodnju ulja, u prehrani, tijekom vjerskih obreda i u medicinske svrhe (Clarke i Merlin, 2013.).

1.2. Mehanizam djelovanja konoplje na reproduktivni sustav

Poznato je da konoplja sadrži više od 100 različitih kanabinoida, kemijski aktivnih tvari koje se vežu na pripadajuće receptore u organizmu i utječu na mnoge fiziološke procese. Jedna od glavnih bioaktivnih komponenti koju konoplja sadrži jest delta-9-tetrahidrokanabinol, poznata pod nazivom THC. Spomenuta molekula smatra se glavnim uzrokom psihoaktivnog i fiziološkog djelovanja biljke konoplje na organizam. Nekoliko fizioloških sustava podložno je utjecaju konoplje, uključujući i reproduktivni sustav.

Utjecaj biljke konoplje na reproduktivni sustav temelji se na postojanju endokanabinoidnog sustava kod kralježnjaka. Endokanabinoidni sustav sastoji se od endogenih kanabinoida (endokanabinoida), kanabinoidnih receptora i enzima važnih za sintezu i razgradnju kanabinoida. Anandamid (AEA) i 2-arahidonoilglicerol (2-AG) dva su glavna endokanabinoida koji nastaju u organizmu (Lu i Mackie, 2016.). Otpuštanjem endokanabinoida te njihovim vezanjem na 2 glavna kanabinoidna receptora, CB1 i CB2, endokanabinoidni sustav uključen je u regulaciju reproduktivnog sustava. Spomenuti receptori pripadaju skupini receptora povezanih s G-proteinom. Njihovom aktivacijom dolazi do inhibicije adenilat ciklaze, enzima koji stvara cAMP ili do inhibicije kalcijevih kanala. Opisanim mehanizmima reguliraju mnoge procese na mjestima na kojima se nalaze. Otkriveno je da su CB1 receptori lokalizirani u središnjem

živčanom sustavu, jajnicima, endometriju maternice, testisima i sjemenovodima (Cacciola i sur., 2008.; El-Talatini i sur., 2009.; Glass i sur, 1997.; Tambaro i sur., 2005.), dok su CB2 receptori pronađeni u neuronima, repu spermija i Sertolijevim stanicama (Agirregoitia i sur., 2010.; Maccarrone i sur., 2003.).

Egzogeni kanabinoidi, poput delta-9-tetrahidrokanabinola, natječu se s endokanabinoidima za vezanje na pripadajuće receptore. Na taj način egzogeni kanabinoidi mogu uzrokovati promjene u regulaciji reproduktivnog sustava.

1.3. Sisavci kao modelni organizmi za proučavanje konoplje

S obzirom na sve veću upotrebu biljke konoplje, bilo je potrebno detaljnije proučiti njezin utjecaj na organizam. Mnoga mišljenja temelje se na promatranjima i usmeno opisanim iskustvima pojedinaca. Kako bi se utjecaj konoplje na organizam, pa i na reproduktivni sustav, mogao pouzdano utvrditi, provedena su mnoga istraživanja na ljudima i animalnim modelima, među kojima se najpouzdanijima smatraju sisavci. Mogućnost kontrole životnih uvjeta te veliki raspon metoda primjenjivih na sisavcima omogućavaju objektivnu potvrdu utjecaja konoplje na organizam (Panlilio i sur., 2010.). Pritom, poznata fiziologija reproduktivnog sustava te sličnost reproduktivnog sustava i djelovanja konoplje među različitim skupinama, neki su od dodatnih razloga koji sisavce čine dobrim modelima za ovakva istraživanja.

2. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA HORMONE REPRODUKTIVNOG SUSTAVA

2.1. Hipotalamus – hipofiza – gonadalni put

Izlučivanje spolnih hormona kod oba spola pod kontrolom je prednjeg režnja hipofize. Hipotalamus, mali dio mozga koji ima važnu ulogu u regulaciji većine tjelesnih funkcija, izlučuje mnogo hormona, među kojima je i gonadotropin otpuštajući faktor (GnRH). Navedeni hormon potiče otpuštanje folikulo-stimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) iz prednjeg režnja hipofize. Muške i ženske gonade pod utjecajem su FSH i LH koji potiču izlučivanje testosterona u muškom, odnosno estrogena i progesterona u ženskom reproduktivnom sustavu. Izlučeni hormoni negativnom povratnom spregom dovode do promjene u otpuštanju GnRH iz hipotalamusa te na taj način smanjuju njegovo izlučivanje (Brown i sur., 2002.).

Otkriveno je da se CB1 kanabinoidni receptor nalazi na mnogim mjestima u organizmu, uključujući hipotalamus. Djelovanjem na CB1 receptore u hipotalamusu ili direktnom inhibicijom otpuštanja GnRH, egzogeni kanabinoidi mogu dovesti do poremećaja u izlučivanju spolnih hormona (Murphy i sur., 1998.). Na taj način, kanabinoidi biljke konoplje mogu mijenjati funkcije reproduktivnog sustava.

2.2. Utjecaj na izlučivanje muških spolnih hormona

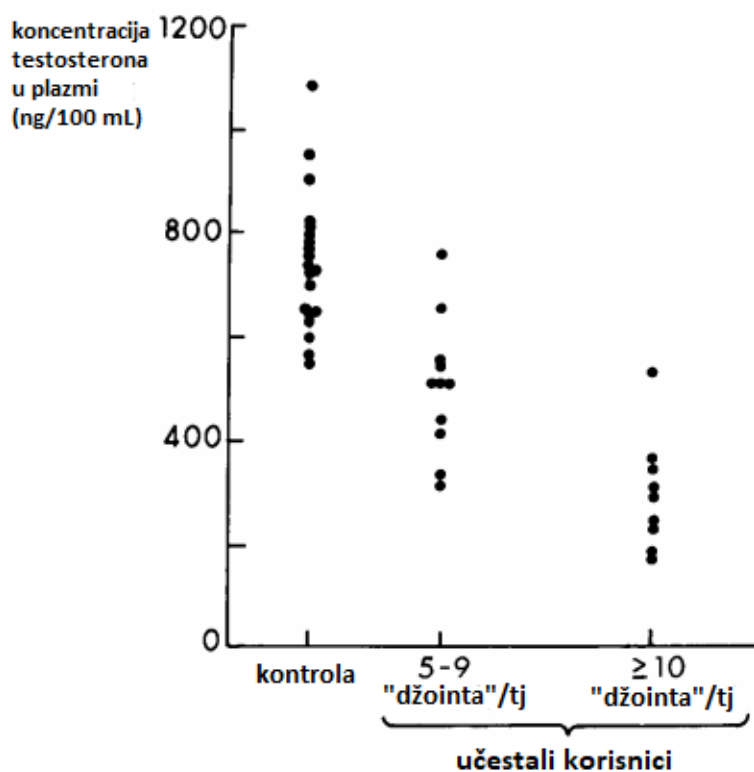
U normalnim fiziološkim okolnostima, LH utječe na Lejdigove stanice u testisima tako da ih potiče na stvaranje testosterona. S druge strane, FSH djeluje na Sertolijeve stanice koje su uključene u regulaciju spermatogeneze. Uočeno je da primjena konoplje kod nekih skupina sisavaca utječe na promjenu razine FSH, LH i testosterona u serumu.

Istraživanja na glodavcima pokazala su da akutna primjena delta-9-tetrahidrokanabinola dovodi do smanjenja količine testosterona, LH i FSH (Murphy i sur., 1994.), što je posljedica inhibicije otpuštanja GnRH iz hipotalamusa. Fisherovi štakori koji su 14 dana izloženi dimu konoplje ili tretirani oralno, pokazuju da u serumu dolazi do pada količine testosterona (Rosenkrantz i Esber, 2009.). Spomenuto istraživanje ukazuje na povezanost smanjenja količine

testosterona i primijenjene doze, odnosno, veća doza dovodi do većeg pada količine testosterona. Osim toga, zanimljivo je da pri manjim dozama akutnog tretmana dolazi do smanjenja količine LH i FSH, međutim, pri većim dozama količina istih se povećava.

Neovisno o dozi, povećanje količine FSH uočeno je na rhesus majmunima koji su oralno tretirani kanabidiolom, kanabinoidom koji se prirodno nalazi u sastavu biljke konoplje. Isti tretman uzrokovao je pad količine testosterona, ali tek pri većim dozama kanabidiola. U prilog tome, otkriveno je da i akutna doza delta-9-tetrahidrokanabinola smanjuje količinu testosterona za 65% u plazmi rhesus majmuna (Smith i sur., 1976.).

S druge strane, istraživanja provedena na ljudima daju raznolike rezultate. Smanjene količine testosterona i FSH uočene su nakon kroničnog tretmana koji je uključivao konzumaciju više od 10 „džointa“ u tjednu (Kolodny i sur., 1974.) (Slika 1.).



Slika 1. Koncentracija testosterona u plazmi ljudi ovisno o količini konzumiranih „džointa“ u tjednu (Kolodny i sur., 1974.).

Djelovanjem preko CB1 receptora u hipofizi, biljka konoplja dovodi i do smanjenja količine LH (Wenger i sur., 1999.). Kasnija istraživanja ne pokazuju da dolazi do znatnog pada u količini testosterona, LH i FSH (Mendelson i sur., 1978.; Cone i sur., 1986.). Međutim, najnovija otkrića ukazuju na povećanje količine testosterona zbog primjene biljke konoplje (Thistle i sur., 2017.). Uočeno je da spomenuto povećanje nije povezano s duljinom i učestalošću korištenja konoplje, već s vremenom koje je proteklo od posljednje primjene. Smanjenjem vremena od posljednjeg korištenja, izmjerena je veća količina testosterona.

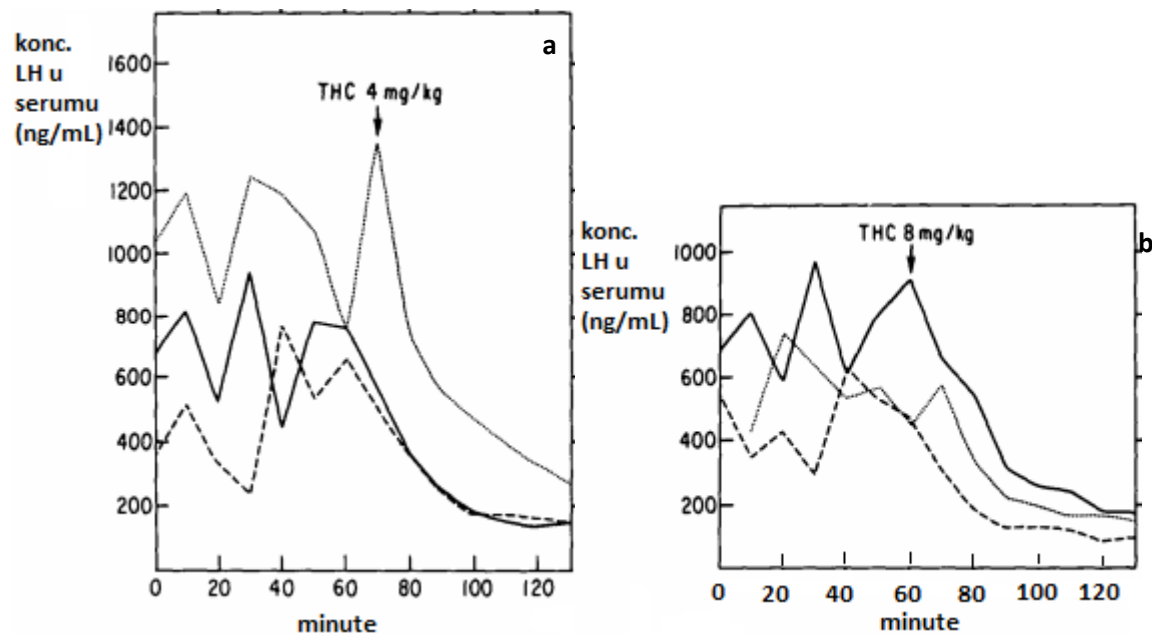
Navedena istraživanja ukazuju na promjene u količini muških spolnih hormona koje su uzrokovane primjenom konoplje. Međutim, uočeno je da se nakon određenog vremena kod animalnih modela i ljudi, razine svih hormona vrate na početnu razinu. Moguće objašnjenje uključuje razvoj tolerancije na utjecaj egzogenih kanabinoida posredovan desenzitizacijom CB1 receptora u hipotalamusu (Rubino i sur., 2000.). Opisani razvitak tolerancije moguć je uzrok različitih rezultata dobivenih u istraživanjima na ljudima. Osim toga, drugačije metode i uvjeti u kojima su pokusi provedeni mogu dovesti do nepodudarajućih rezultata. Iako kratkoročne, promjene u muškim spolnim hormonima mogu imati direktan utjecaj na razvoj testisa, čime se onemogućuje normalna funkcija Lejdigovih i Sertolijevih stanica (Rosenkrantz i Esber, 2009.).

2.3. Utjecaj na izlučivanje ženskih spolnih hormona

Izlučivanje LH i FSH iz prednjeg režnja hipofize direktno utječe na izlučivanje estrogena i progesterona u jajnicima, što omogućuje normalnu kontrolu ovulatornog ciklusa. Prva polovica menstrualnog ciklusa uključuje folikularnu fazu jajnika u kojoj, djelovanjem FSH, dolazi do rasta i razvoja jajnih folikula. Rastući folikuli stvaraju estrogen koji negativnom povratnom spregom smanjuje izlučivanje LH i FSH. Međutim, kad koncentracija estrogena dosegne vrhunac, pozitivnom povratnom spregom potiče se izlučivanje LH koji dovodi do ovulacije. Tim procesom dolazi do izbacivanja oocite iz zrelih folikula, čime započinje lutealna faza jajnika. Folikuli iz kojih je izbačena jajna stanica stvaraju progesteron koji pospješuje receptivnost endometrija maternice i implantaciju. Ukoliko ne dođe do začeća, količina progesterona se smanjuje, čime završava lutealna faza (Brown i sur., 2002.). Istraživanja su pokazala da primjena

biljke konoplje može onemogućiti normalno izlučivanje spolnih hormona kod ljudi i životinja, što dovodi do poremećaja ovulatornog ciklusa.

Primijećeno je da delta-9-tetrahidrokanabinol dovodi do promjene u izlučivanju GnRH iz hipotalamusa (Murphy i sur., 1998.), što dovodi do smanjenja količine LH kod štakora (Nir i sur., 1973.) i zečeva (Asch i sur., 1979.). Sličan efekt uočen je nakon primjene delta-9-tetrahidrokanabinola na miševima, pri čemu, uz smanjenje količine LH, dolazi i do smanjenja količine FSH (Dalterio i sur., 1983.). Gotovo potpunu inhibiciju izlučivanja LH kod štakora uzrokuju već i niske koncentracije delta-9-tetrahidrokanabinola (Tyrey, 1978.) (Slika 2.).



Slika 2. Koncentracija LH u serumu štakora prije i nakon tretmana dvjema koncentracijama delta-9-tetrahidrokanabinola: 4 mg/kg (a) i 8 mg/kg (b). Strelica označava vrijeme iniciranja delta-9-tetrahidrokanabinola. Svakom koncentracijom tretirana su po tri miša (tri različite linije na svakom grafu) (Tyrey, 1978.).

Isti kanabinoid uzrokuje smanjenje količine LH za 50% do 80% kod rhesus majmuna (Besch i sur., 1977.). Poremećena količina LH i FSH u lutealnoj fazi može dovesti do smanjene količine progesterona, što je uočeno na rhesus majmunima nakon akutnog tretmana delta-9-

tetrahidrokanabinolom (Almirez i sur., 1983.). Međutim, kronični tretman nije imao utjecaja na količinu progesterona (Asch i sur., 1979.), što bi moglo biti uzrokovano razvojem tolerancije na delta-9-tetrahidrokanabinol u lutealnoj fazi.

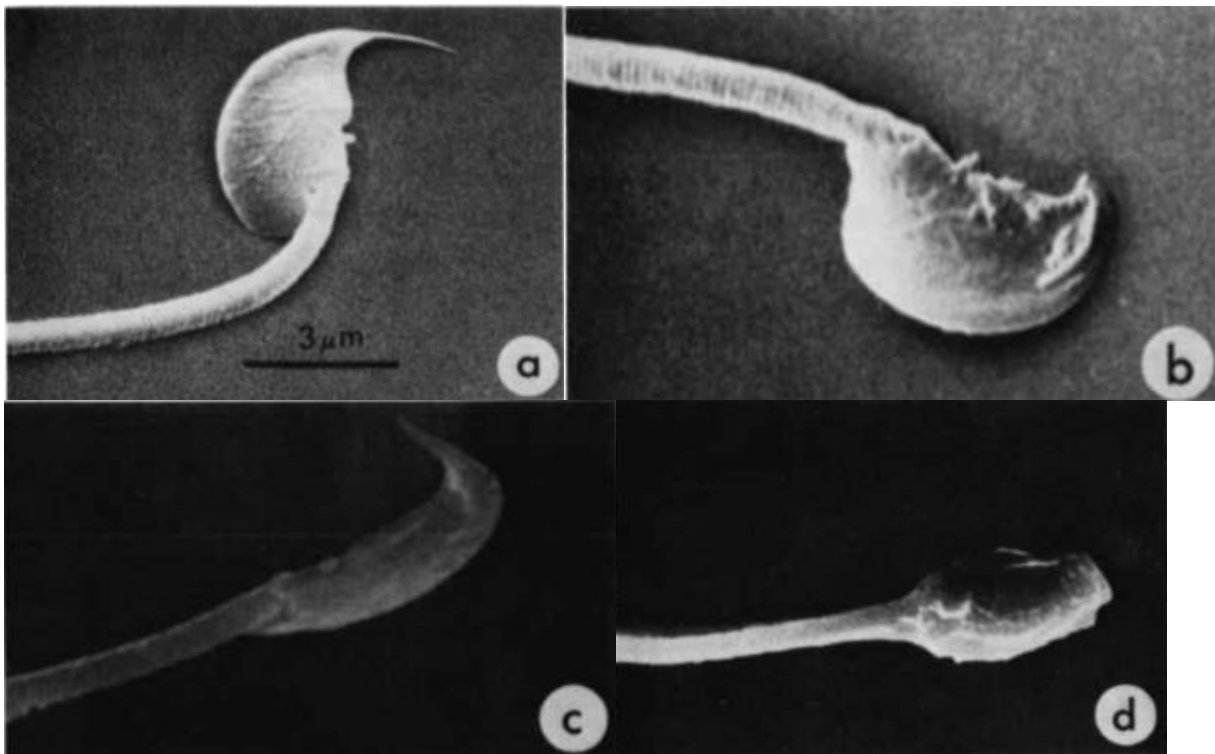
Utjecaj egzogenih kanabinoida na izlučivanje LH kod ljudi ovisi o tome u kojoj je fazi ovulatornog ciklusa korištena konoplja. Pokazano je da u lutealnoj fazi dolazi do pada u količini LH za 30% nakon korištenja jednog grama konoplje koja sadrži 1,8% delta-9-tetrahidrokanabinola (Mendelson i sur., 1986.). Za razliku od toga, utjecaj konoplje na količinu LH nije uočen nakon primjene u folikularnoj fazi.

Korištenjem biljke konoplje dolazi do promjene u količini ženskih spolnih hormona. Smatra se da egzogeni kanabinoidi dovode do smanjenja u količini LH koji u normalnim okolnostima potiče ovulaciju, što dovodi do produljenja lutealne faze ovulatornog ciklusa ili izostanka ovulacije (Dixit i sur., 1975.). Međutim, u određenom vremenu nakon kroničnog tretmana konopljom, poremećaji ovulatornog ciklusa izostanu te se ciklus uobičajeno nastavlja (Smith i sur., 1983.). Navedeni efekt može biti posljedica već spomenute desenzitizacije CB1 receptora, odnosno razvoja tolerancije na egzogene kanabinoide. Osim smanjene količine LH, uočeno je smanjenje količine FSH, čime se onemogućuje normalan razvitak jajnih folikula i sazrijevanje oocite. Unatoč povratku u normalno stanje, promjene u izlučivanju spolnih hormona mogu dovesti do neovulatornih ciklusa i smanjene plodnosti žena.

3. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA MUŠKI REPRODUKTIVNI SUSTAV

3.1. Utjecaj na morfologiju, brojnost i pokretljivost spermija

Normalna morfologija spermija glodavaca uključuje glatku glavu u obliku „zrna graha“, na čijem se vrhu nalazi „kuka“ (Slika 3., a). Zimmerman i sur. uočili su veću količinu abnormalnih spermija (Slika 3., b, c, d) u miševima koji su pet dana tretirani delta-9-tetrahidrokanabinolom i kanabinolom, još jednim kanabinoidom biljke konoplje (Zimmerman i sur., 1979.).



Slika 3. Normalni (a) i abnormalni (b, c, d) spermiji miševa nakon 5-dnevnog tretmana delta-9-tetrahidrokanabinolom i kanabinolom promatrani elektronskim mikroskopom. (b) spermiji bez „kuke“ na glavi, (c) spermiji s amorfnom glavom, (d) spermiji s presavijenom glavom (Zimmerman i sur., 1979.)

Također, otkriveno je da miševi (Banerjee i sur., 2011.) i Wistar štakori (Lotfi i sur., 2013.) izloženi konoplji sadrže znatno manji broj spermija u odnosu na kontrolne skupine. Smanjena koncentracija spermija, poznata i pod nazivom oligospermija, uočena je i nakon kronične primjene konoplje kod ljudi (Kolodny i sur., 1974.). Mogući uzrok uključuje vezanje kanabinoida konoplje na CB2 receptore koji u Sertolijevim stanicama mogu dovesti do apoptoze (Maccarrone i sur., 2003.). Unatoč mogućem negativnom utjecaju na spermatogenezu, najnovije istraživanje, kojim je dokazana ključna uloga CB2 receptora u regulaciji spermatogeneze, ukazuje na moguću pozitivnu ulogu primjene egzogenih kanabinoida (Di Giacomo i sur., 2016.). Uravnotežena aktivacija i inaktivacija spomenutih receptora omogućava regulaciju diferencijacije spolnih stanica, što može dovesti do povećanja procesa spermatogeneze.

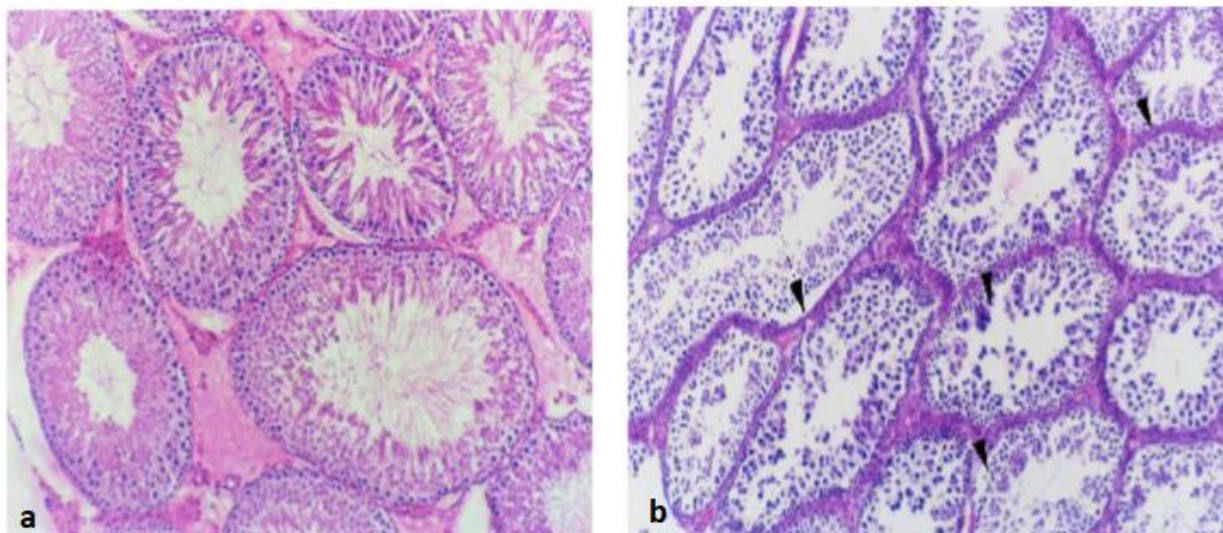
Osim utjecaja na morfologiju i broj, uočeno je da egzogeni kanabinoidi utječu na pokretljivost spermija štakora (Lotfi i sur., 2013.) i ljudi (Gundersen i sur., 2015.). Smanjujući aktivnost i respiraciju mitohondrija, delta-9-tetrahidrokanabinol usporava pokretljivost spermija (Badawy i sur., 2009.). Aktivacijom kanabinoidnih receptora u spermijima, dolazi do smanjenja u količini ATP-a, zbog čega spermiji ostaju bez energije (Morgan i sur., 2012.). Uključivanjem u endokanabinoidni sustav, kanabinoidi konoplje mogu dovesti do poremećaja u procesima spermija koji ovise o energiji, što može rezultirati povećanjem broja nefunkcionalnih spermija.

3.2. Utjecaj na veličinu, građu i enzime testisa

Testisi su muške spolne žlijezde obavijene čahuricom od gustog vezivnog tkiva. U unutrašnjosti, vezivne pregrade dijele testis na režnjiće, od kojih svaki sadrži 1 do 4 sjemena kanalića. Takve duge zavijene cjevčice, poznate i kao seminiferozni tubuli, sadrže mnogoslojni epitel koji je građen od spermija u različitim fazama razvoja. U masnom tkivu oko testisa može doći do nakupljanja određenih hidrofobnih tvari, među kojima su egzogeni kanabinoidi. Polaganim otpuštanjem s mjesta akumulacije, egzogeni kanabinoidi mogu dovesti do morfoloških i funkcionalnih promjena u testisu (Nahas i sur., 2002.).

Pokazano je da ekstrakt biljke konoplje korišten u tretmanu tijekom 30 dana dovodi do smanjenja mase testisa kod pasa (Dixit i sur., 1977.). Opisani efekt može biti povezan sa smanjenjem promjera seminiferoznih tubula koji je uočen kod Wistar štakora nakon tretmana

konopljom (Lotfi i sur., 2013.). Također, promjena tubula uslijed korištenja konoplje pokazana je na albino štakorima (Yasa i sur., 2010.). U spomenutom istraživanju dolazi do oštećenja bazalne membrane tubula zbog odvajanja stanica s bazalnog sloja, što dovodi do pojave velikih, gustih stanica u lumenu tubula (Slika 4.)



Slika 4. Presjek testisa kontrolnih albino štakora (a) i albino štakora koji su tretirani ekstraktom konoplje (b). Strelice pokazuju odvajanje stanica s bazalne membrane seminiferoznih tubula, uz pojavu velikih stanica u lumenu (Yasa i sur., 2010.).

Odvajanje stanica i pojava istih u unutrašnjosti tubula moguće su posljedice smanjenja aktivnosti enzima djelovanjem delta-9-tetrahidrokanabinola (Chakravarty i sur., 1981.). Pokazano je da, ovisno o dozi, THC smanjuje djelovanje beta-glukuronidaze, alfa-glukozidaze, kisele fosfataze i fruktoza-6-fosfastaze u testisima.

Sličan utjecaj na smanjenje mase testisa uočen je na albino miševima, pri čemu je otkrivena ovisnost primijenjene doze i stupnja oštećenja (Mandal i Das, 2010.). Zanimljivo, niža doza dovodi do većeg oštećenja tkiva testisa u odnosu na veću dozu ekstrakta konoplje. Uz to, veće doze konoplje dovode do stvaranja većih količina antioksidativnih i antiperoksidativnih enzima u testisima, primjerice lipidne peroksidaze. Iz toga je zaključeno da veće doze ekstrakta

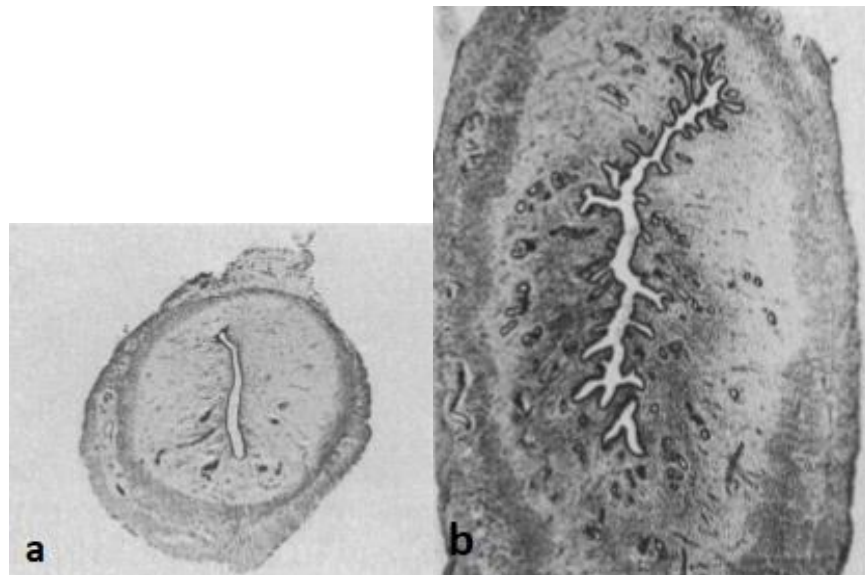
konoplje uzrokuju jače obrambene mehanizme u testisima koji uključuju aktivaciju antioksidativnih enzima, zbog čega dolazi do manjeg oštećenja testisa.

4. UTJECAJ BILJKE KONOPLJE NA ŽENSKI REPRODUKTIVNI SUSTAV

4.1. Utjecaj na građu i funkciju maternice

Maternica, jedan od glavnih organa ženskog reproduktivnog sustava, sadrži tri sloja. Seroza, vanjski sloj koji oblaže organ, povezan je sa snopovima glatkih mišića koji stvaraju drugi sloj maternice, miometrij. Sluznica maternice, odnosno endometrij, sastoji se od jednoslojnog cilindričnog i žljezdanog epitela koji tijekom menstrualnog ciklusa prolazi kroz određene promjene. Kao što je već spomenuto, endometrij maternice sadrži CB1 kanabinoidne receptore (Munro i sur., 1993.) preko kojih delta-9-tetrahidrokanabinol može uzrokovati mnoge promjene u maternici.

Histološkim analizama pokazano je da THC potiče hiperplaziju i hipertrofiju maternice štakora (Solomon i sur., 1976.). 2.5 mg/kg navedene tvari dovodi do proširenja lumena maternice i rasta strome endometrija i miometrija (Slika 5.). 1 mg/kg i 10 mg/kg iste tvari potiče rast žlijezda endometrija te ima slabiji učinak na rast endometrija i miometrija u odnosu na koncentraciju od 2.5 mg/kg. Opisana odebljanja slojeva maternice uzrok su povećane mase nakon tretmana delta-9-tetrahidrokanabinolom.



Slika 5. Presjek maternice štakora kontrolne skupine (a) i skupine tretirane s 2.5 mg/kg delta-9-tetrahidrokanbinola (b).

Osim utjecaja na morfologiju, Chakravarty i Ghosh pokazali su da ekstrakt konoplje ima utjecaj na dva enzima maternice, glikogen fosforilazu i glikogen sintetazu (Chakravarty i Ghosh, 1976.). Smanjenjem aktivnosti sintetaze i povećanjem fosforilazne aktivnosti, THC dovodi do smanjenja količine glikogena u maternici štakora. S obzirom na važnost glikogena u prehrani embrija tijekom ranih faza razvoja, konoplja može imati loš utjecaj na implantaciju i preživljavanje embrija (Dean i sur., 2014.).

Endogeni kanabinoid anandamid djeluje kao agonist GPR18 receptora na stanicama endometrija, zbog čega ima utjecaj na pokretljivost stanica endometrija. Pokazano je da THC ima sličan učinak na HEC-1B stanice endometrija kod ljudi (McHugh i sur., 2011.). Mehanizmom koji je neovisan o CB1 receptorima, THC potiče migraciju HEC-1B stanica, što može dovesti do nastanka endometrioze, poremećaja u kojem tkivo endometrija raste izvan maternice.

4.2. Utjecaj na funkcije jajovoda

Cjevasti organi, jajovodi, koji s jedne strane primaju jajnu stanicu iz jajnika, a s druge strane ostvaruju kontakt s maternicom, važno su mjesto za oplodnju i sazrijevanje spermija u ženskom reproduktivnom sustavu. Zbog prisutnosti CB1 kanabinoidnih receptora, smatra se da su podložni djelovanju egzogenih kanabinoida (Schuel, 2006.). Signalizacijom preko CB1 receptora, anandamid ima važnu ulogu u regulaciji prijenosa embrija miša kroz jajovod (Wang i sur., 2004.). Također, istraživanja provedena na ljudima pokazuju da je koncentracijski gradijent anandamida u jajovodu važan za regulaciju kapacitacije spermija (Maccarrone i sur., 2005.). Istraživanje na ljudima pokazalo je da THC, poput anandamida, djelovanjem preko kanabinoidnih receptora, može imati utjecaj na prijenos i kapacitaciju spermija te oplodnju u jajovodu (Schuel i sur., 2002.).

5. ZAKLJUČAK

Učestalije korištenje biljke konoplje dovelo je do potrebe za proučavanjem mogućih učinaka na psihološki i fiziološki sustav organizma. Sisavci su se pokazali kao dovoljno raznolika, ali i fiziološki slična skupina organizama na kojima se mogu provoditi takva istraživanja. Regulacija reproduktivnog sustava sisavaca temelji se na postojanju endokanabinoidnog sustava i endokanabinoida. Međutim, prisutnost egzogenih kanabinoida može utjecati na normalnu funkciju endokanabinoida i njihovo vezanje na odgovarajuće receptore. Sa sigurnošću je utvrđeno da kanabinoidi konoplje dovode do akutnih promjena u količini spolnih hormona. Takve fluktuacije mogu dovesti do oštećenja reproduktivnih organa, ali i do promjena u njihovoj funkciji. Vezanje egzogenih kanabinoida na endokanabinoidne receptore uzrokuje promijenjenu regulaciju reproduktivnih procesa. Iako su dokazane mnoge negativne posljedice konoplje na reprodukciju, ne treba zanemariti moguće pozitivno djelovanje na organizam. Budućim istraživanjima potrebno je bolje istražiti mehanizme kojima konoplja djeluje na reproduktivni sustav te utvrditi optimalne količine i mjesta djelovanja egzogenih kanabinoida. Na taj način, biljka konoplja bi se mogla koristiti u liječenju poremećaja reproduktivnog sustava.

6. LITERATURA

- Agirregoitia, E., Carracedo, A., Subiran, N., Valdivia, A., Agirregoitia, N., Peralta, L., et al. 2010. The CB(2) cannabinoid receptor regulates human sperm cell motility. *Fertility and Sterility*. 93 (5), 1378–1387.
- Almirez, R. G., Smith, C. G., Asch, R. H. 1983. The effects of marijuana extract and delta 9-tetrahydrocannabinol on luteal function in the rhesus monkey. *Fertility and Sterility*. 39 (2), 212-217.
- Asch, R. H., Fernandez, E. O., Smith, C. G., Pauerstein, C. J. 1979. Precoital single doses of THC block ovulation in the rabbit. *Fertility and Sterility*. 31, 331-334.
- Banerjee, A., Singh, A., Srivastava, P., Turner, H., Krishna, A. 2011. Effects of Chronic Bhang (Cannabis) Administration on the Reproductive System of Male Mice. *Birth Defects Research Part B Developmental and Reproductive Toxicology*. 92, 195–205.
- Badawy, Z. S., Chohan, K. R., Whyte, D. A., Penefsky, H. S., Brown, O. M., Souid, A. K. 2009. Cannabinoids inhibit the respiration of human sperm. *Fertility and Sterility*. 91 (6), 2471–2476.
- Besch, N. F., Smith, C. G., Besch, P. K., Kaufman, R. H. 1977. The effect of marijuana on the secretion of luteinizing hormone in ovariectomized rhesus monkey. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 128, 635-642.
- Brown, T. T., Dobs, A. S. 2002. Endocrine Effects of Marijuana. *Journal of Clinical Pharmacology*. 42, 90-96.
- Cacciola, G., Chioccarelli, T., Ricci, G., Meccariello, R., Fasano, S., Pierantoni, R., et al. 2008. The endocannabinoid system in vertebrate male reproduction: a comparative overview. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 286 (1–2 Suppl 1), 24–30.
- Chakravarty, I., Ghosh, J. J. 1981. Influence of cannabis and delta-9tetrahydrocannabinol on the biochemistry of the male reproductive organs. *Biochemical Pharmacology*. 30 (4), 273–276.
- Chakravarty, I., Ghosh, J., J. 1976. Effect of cannabis extract on uterine glycogen metabolism in prepubertal rats under normal and estradiol-treated conditions. *Biochemical Pharmacology*. 26, 859-862.

Clarke, R. C., Merlin, M. D. 2013. Cannabis: Evolution and Ethnobotany. University of California Press. 17-19.

Cone, E. J., Johnson, R. E., Moore, J. D., Roache, J. D. 1986. Acute effects of smoking marijuana on hormones, subjective effects and performance in male human subjects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 24 (6), 1749–1754.

Dalterio, S. L., Mayfield, D. L., Bartke, A. 1983. Effects of delta-9-THC on plasma hormone levels in female mice. *Substance Alcohol Actions Misuse*. 4, 339-345.

Dean, M., Hunt, J., McDougall, L., Rose, J. 2014. Uterine glycogen metabolism in mink during estrus, embryonic diapause and pregnancy. *Journal of Reproduction and Development*. 60 (6), 438-446.

Di Giacomo D., De Domenico E., Sette C., Geremia R., Grimaldi P. 2016. Type 2 cannabinoid receptor contributes to physiological regulation of spermatogenesis. *The FASEB Journal*. 30 (4), 1453-1463.

Dixit, V. P., Gupta, C. L., Agrawal, M. 1977. Testicular degeneration and necrosis induced by chronic administration of cannabis extract in dogs. *Endokrinologie*. 69 (3), 299-305.

Dixit, V. P., Arya, M., Lohiya, N. K. 1975. The effect of chronically administered cannabis extract on the female genital tract of mice and rats. *Endokrinologie*. 66 (3), 365-368.

El-Talatini, M. R., Taylor, A. H., Elson, J. C., Brown, L., Davidson, A. C., Konje, J. C. 2009. Localisation and function of the endocannabinoid system in the human ovary. *PLoS One*. 4(2), 4579.

Glass, M., Dragunow, M., Faull, R. L. 1997. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*. 77 (2), 299–318.

Gundersen, T. D., Jørgensen, N., Andersson, A-M., Bang, A. K., Nordkap, L., Skakkebak, N. E., Priskorn, L., Juul, A., Jensen, T. K. 2015. Association Between Use of Marijuana and Male Reproductive Hormones and Semen Quality: A Study Among 1,215 Healthy Young Men. *American Journal of Epidemiology*. 182 (6), 473-481.

- Kolodny, R. C., Masters, W. H., Kolodner, R. M., Toro, G. 1974. Depression of plasma testosterone levels after chronic intensive marihuana use. *The New England Journal of Medicine*. 290 (16), 872-874.
- Lotfi, N., Khazaei, M., Shariatzadeh, S. M. A., Soleimani Mehranjani, M., Ghanbari, A. 2013. The effect of Cannabis sativa hydroalcoholic extract on sperm parameters and testis histology in rats. *International Journal of Morphology*. 31 (1), 82-86.
- Lu, H. C., Mackie, K. 2016. An introduction to the endogenous cannabinoid system. *Biol Psychiatry*. 79 (7), 516-525.
- Maccarrone, M., et al. 2005. Characterization of the endocannabinoid system in boar spermatozoa and implications for sperm capacitation and acrosome reaction. *Journal of Cell Science*. 118, 4393–4404.
- Maccarrone, M., Cecconi, S., Rossi, G., Battista, N., Pauselli, R., Finazzi-Agro, A. 2003. Anandamide activity and degradation are regulated by early postnatal aging and follicle-stimulating hormone in mouse Sertoli cells. *Endocrinology*. 144 (1), 20–28.
- Mandal, T. K., Das, N. D. 2010. Testicular toxicity in cannabis extract treated mice: association with oxidative stress and role of antioxidant enzyme systems. *Toxicology and Industrial Health*. 26 (1), 11–23.
- Mendelson, J. H., Mello, N. K., Ellingboe, J., Skupny, A. S., Lex, B. W., Griffin, M. 1986. Marihuana smoking suppresses luteinizing hormone in women. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 237 (3), 862-866.
- Mendelson, J., Ellingboe, J., Kuehnle, J., Mello, N. K. 1978. Effects of chronic marihuana use on integrated plasma testosterone and luteinizing hormone levels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 207, 611-617.
- McHugh, D., Page, J., Dunn, E., Bradshaw, H. B. 2011. D9-Tetrahydrocannabinol and N-arachidonyl glycine are full agonists at GPR18 receptors and induce migration in human endometrial HEC-1B cells. *British Journal of Pharmacology*. 165, 2414–2424.

- Morgan, D. J., Muller, C. H., Murataeva, N. A., Davis, B. J., Mackie, K. 2012. D-9-Tetrahydrocannabinol (D-9-THC) attenuates mouse sperm motility and male fecundity. *British Journal of Pharmacology*. 165, 2575–2583.
- Munro, S., Thomas, K. L., Abu-Shaar, M. 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 365 (6441), 61–65.
- Murphy, L. L., Munoz, R. M., Adrian, B. A., Villanua, M. A. 1998. Function of cannabinoid receptors in the neuroendocrine regulation of hormone secretion. *Neurobiology of Disease*. 5, 432-446.
- Murphy, L. L., Chandrashekar, V., Bartke, A. 1994. Delta-9-tetrahydrocannabinol inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion in the male rat. *Neuroendocrinol Lett*. 16, 1-7.
- Nahas, G. G., Frick, H. C., Lattimer, J. K., Latour, C., Harvey, D. 2002. Pharmacokinetics of THC In Brain And testis, male gametotoxicity and premature apoptosis of spermatozoa. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 17 (2), 103–113.
- Nir, I., Ayalon, D., Tsafiriri, A., et al. 1973. Suppression of cyclic surge of luteinizing hormone secretion and of ovulation in the rat by THC. *Nature*. 243, 470-471.
- Panlilio, L. V., Justinova, Z., Goldberg, S. R. 2010. Animal models of cannabinoid reward. *British Journal of Pharmacology*. 160, 499–510.
- Rosenkrantz, H., Esber, H. J. 2009. Cannabinoid-induced hormone changes in monkeys and rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health: Current issues*. 6 (2), 297-313.
- Rubino, T., Vigano, D., Massi, P., Parolaro, D. 2000. Changes in the cannabinoid receptor binding, G protein coupling, and cyclic AMP cascade in the CNS of rats tolerant to and dependent on the synthetic cannabinoid compound CP55, 940. *Neurochemical Journal*. 75, 2080-2086.
- Schuel, H. 2006. Tuning the oviduct to the anandamide tone. *The Journal of Clinical Investigation*. 116, 2087–2090.

- Schuel, H., Burkman, L. J., Lippes, J., Crickard, K., Mahony, M. C., Giuffrida, A., Picone, R. P., Makryannis, A. 2002. Evidence That Anandamide-Signaling Regulates Human Sperm Functions Required for Fertilization. *Molecular Reproduction and Development*. 63, 376–387.
- Smith, C. G., Almirez, R. G., Berenberg, J., Asch, R. H. 1983. Tolerance develops to the disruptive effects of THC on the primate menstrual cycle. *Science*. 219, 1453-1455.
- Smith, C. G., Moore, C. E., Besch, N. F., Besch, P. K. 1976. The effect of marihuana (delta-9-tetrahydrocannabinol) on the secretion of sex hormones in the mature male rhesus monkey. *Clinical Chemistry*. 22, 1184.
- Solomon, J., Cocchia, M. A., DiMartino, R. 1977. Effect of Delta-9-Tetrahydrocannabinol on Uterine and Vaginal Cytology of Ovariectomized Rats. *Science*. 195 (4281), 875-877.
- Tambaro, S., Mongeau, R., Dessi, C., Pani, L., Ruiu, S. 2005. Modulation of ATP-mediated contractions of the rat vas deferens through presynaptic cannabinoid receptors. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 525 (1–3), 150–153.
- Thistle, J. E., Graubard, B. I., Braunlin, M., Vesper, H., Trabert, B., Cook, M. B., McGlynn; K. A. 2017. Marijuana use and serum testosterone concentrations among U.S. males. *Andrology*. 5 (4), 732–738.
- Tyrey, L. 1978. delta-9-Tetrahydrocannabinol Suppression of Episodic Luteinizing Hormone Secretion in the Ovariectomized Rat. *Endocrinology*. 102 (6), 1808-1814.
- Wang, H., et al. 2004. Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos. *Nature Medicine*. 10, 1074–1080.
- Wenger, T., Fernandez-Ruiz, J. J., Ramos, J. A. 1999. Immunocytochemical demonstration of CB1 cannabinoid receptors in the anterior lobe of the pituitary gland. *Journal of Neuroendocrinology*. 11 (11), 873–878.
- Yassa, H. A., Wahab, A. E., Dawood, A., Shehata, M. M., Abdel-Hady, R. H., Abdel Aal1, K. M. 2010. Subchronic toxicity of cannabis leaves on male albino rats. *Human and Experimental Toxicology*. 29 (1), 37–47.

Zimmerman, A. M., Bruce, W. R., Zimmerman, S. 1979. Effects of cannabinoids on sperm morphology. *Pharmacology*. 18, 143-148.

7. SAŽETAK

Zbog sve veće upotrebe biljke konoplje, potrebna su objektivna istraživanja kojima će se utvrditi njezin utjecaj na organizam. Uključivanjem u endokanabinoidni sustav reproduktivnih organa, kanabinoidi biljke konoplje mogu uzrokovati mnoge promjene u morfologiji i funkciji reproduktivnog sustava. Potvrđeno je da korištenje konoplje dovodi do kratkoročnih promjena u izlučivanju muških i ženskih spolnih hormona. Razvojem tolerancije na egzogene kanabinoide, količine spolnih hormona vraćaju se na početnu razinu. Unatoč tome, promjene u količini spolnih hormona imaju direktan učinak na organe reproduktivnog sustava. Abnormalni izgled i nefunkcionalnost spermija te histološke i biokemijske posljedice na testisima rezultat su djelovanja konoplje na muški reproduktivni sustav. Neuobičajeni rast maternice i mogući utjecaj na procese koji se odvijaju u jajovodu neki su od razloga kojima se potvrđuje toksičnost biljke konoplje za ženski reproduktivni sustav. Proučavanjem meta i mehanizama djelovanja konoplje na reproduktivni sustav, otvara se mogućnost za promjene u regulaciji reproduktivnih funkcija. Upravo zbog toga, daljnja istraživanja će omogućiti detaljnije spoznaje o utjecaju konoplje na organizam te potencijalno liječenje reproduktivnih poremećaja i neplodnosti.

8. SUMMARY

Due to the increased use of cannabis plants, objective studies are needed to determine its impact on the organism. By incorporating into the endocannabinoid system of reproductive organs, cannabinoids of cannabis plants might cause many changes in the morphology and function of the reproductive system. It has been confirmed that the use of cannabis leads to short-term changes in the secretion of male and female sex hormones. By developing tolerance to exogenous cannabinoids, the number of sex hormones returns to the initial level. Despite this, the changes in the number of sex hormones have a direct effect on the organs of the reproductive system. Abnormal appearance and dysfunction of sperm cells, as well as the histological and biochemical effects on the testicles are the result of cannabis activity on the male reproductive system. The unusual growth of the uterus and the possible impact on the processes that take place in the oviduct are some of the reasons that confirms the toxicity of the cannabis plant for the female reproductive system. The study of the targets and mechanisms of cannabis effects on the reproductive system allows changes in the regulation of reproductive functions. Precisely for this reason, further research will enable more detailed understanding of the impact of cannabis on the body and possible new ways of treating the reproductive disorders and infertility.